



ОБЩЕЕ ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, РАСТЕНИЕВОДСТВО, ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

УДК 633.854.54:632.93

DOI 10.25230/conf11-2021-148-152

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ И РОСТОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ АНТАГОНИСТОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ФУЗАРИОЗА КУЛЬТУРУ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО

Воронкова А.Х.

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

aliya.voronkova@mail.com

Приведены результаты испытаний по определению фитотоксичности и ростостимулирующей активности выделенных на первых этапах скрининга штаммов антагонистов возбудителей фузариоза льна масличного из коллекции лаборатории биометода ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Установлено, что перспективные штаммы грибов и бактерий не оказывают негативного влияния на всхожесть семян льна масличного и не вызывают увядания проростков. Отмечено повышение всхожести семян по сравнению с контролем во всех вариантах на 5,0–13,0 %. Лучшие результаты по увеличению длины (на 102,0–108,4 %) и массы корня (на 100 %) по сравнению с контролем показали бактериальные штаммы К 1-2 *B. subtilis* и 11-3 *Bacillus* sp., а из грибных – Т-1 *Trichoderma* sp., показавший увеличение длины корня по сравнению с контролем на 55,1 % и массы – на 66,7 %. Влияние всех исследуемых штаммов по сравнению с контролем на длину и массу побега также отмечено, но в меньшей степени, чем на корень (2,3–35,7 % и 20,0–62,5 % соответственно).

Ключевые слова: лен масличный, возбудители фузариоза, штаммы антагонисты, фитотоксичность, ростостимулирующая активность.

Введение. Лен масличный (*Linum usitatissimum* L.) – ценная техническая культура многостороннего использования, популярность которой у сельхозпроизводителей растёт с каждым годом [1]. Однако не весь потенциал биологической и хозяйственной продуктивности этой культуры используется. Одной из серьёзных причин, препятствующих получению стабильно высоких урожаев льна масличного, является ущерб, наносимый болезнями. Наиболее вредоносной болезнью, которая поражает культуру во всех регионах выращивания льна, на протяжении всего периода вегетации является фузариоз, вызываемый грибами из рода *Fusarium* Link [2; 3].

В лаборатории биометода ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК в течение многих лет ведутся исследования по разработке микробиологических средств защиты масличных культур от болезней [4]. Зарегистрированных биологических препаратов, защищающих растения льна масличного от возбудителей фузариоза нет. Поэтому в последние годы проводится работа по поиску перспективных штаммов-продуцентов для создания микробиопрепаратов против возбудителей фузариоза льна масличного: *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Shyd. et Hans. var. *orthoceras* (App. Et Wr.) Bilai и *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., Lewis [5].

При разработке микробиопрепарата полифункционального типа действия следует учитывать, что потенциальный штамм-продуцент должен не только проявлять антифунгальные свойства *in vitro*, обеспечивать эффективную защиту семян, проростков и вегетирующих растений от патогенов, но и положительно влиять на рост и развитие защищаемой культуры. Поэтому, создание эффективных, экологически безопасных микробиопрепаратов полифункционального типа действия, для снижения вредоносности



фузариоза на льне масличном является не только актуальным, но и востребованным [6].

Ступенчатый скрининг штаммов антагонистов фитопатогенов к возбудителям болезней включает первичную оценку антагонистической активности штаммов *in vitro*, определение биологической эффективности лабораторных образцов микробиопрепаратов на основе отобранных штаммов на фоне искусственного заражения патогенами в лабораторных условиях во влажной камере и в грунте. Выделенные перспективные штаммы оценивают на фитотоксичность к защищаемой культуре и ростостимулирующую активность [7].

Материалы и методы. Определение фитотоксичности штаммов антагонистов проводили методом замачивания семян льна масличного сорта ВНИИМК 620 в водной суспензии (ВС) перспективных штаммов антагонистов на два часа. Для этого культуры 10 активных штаммов антагонистов выращивали на агаризированной питательной среде: грибы – в течение 10 суток, а бактерии – пять суток. Затем готовили грибную и бактериальную суспензию методом смыва стерильной водой, из расчета 150 мл стерильной воды и ¼ часть чашки Петри (ЧП) грибов и бактерий. В приготовленной водной суспензии определяли титр жизнеспособных единиц микробиологическим способом [8]. Семена закладывали в рулоны из фильтровальной бумаги по 50 штук, повторность трехкратная. Контроль – семена, замоченные в стерильной воде. Учет проводился на 7 сутки. По количеству проросших семян в контроле и в вариантах судили о фитотоксичности выделенных антагонистов.

С целью установления влияния антагонистов на увядание проростков льна масличного, культуры 10 активных штаммов также выращивали на агаризированной питательной среде: грибы – в течение 10 суток, а бактерии – пять суток. Суспензию готовили методом смыва стерильной водой. После определения титра в химические стаканы с грибной и бактериальной суспензией помещали здоровые семидневные проростки льна с подрезанной корневой системой. Контроль – проростки льна масличного с подрезанной корневой системой, помещенные в стерильную воду. Учет проводили на 5-е сутки. По количеству увядших растений в контроле и вариантах судили о фитотоксичности активных штаммов антагонистов.

Для изучения ростостимулирующего влияния перспективных штаммов на проростки льна масличного, семена предварительно замачивали в суспензии грибов и бактерий антагонистов на два часа и помещали на проращивание в рулоны из фильтровальной бумаги на семь суток при температуре +25,0 °С. Параметрами для последующего анализа служили длина и масса корня и побега [9].

Результаты и обсуждение. Одним из этапов скрининга является выявление фитотоксического и ростостимулирующего воздействия выделенных перспективных штаммов антагонистов на культуру льна масличного.

Установлено, что перспективные штаммы грибов и бактерий антагонистов не оказывают негативного влияния на всхожесть семян льна и не вызывают увядания проростков с подрезанной корневой системой. Более того, отмечено повышение всхожести семян по сравнению с контролем во всех вариантах на 5,0–13,0 % (табл. 1; рис. 1).

Таблица 1. Фитотоксичность перспективных штаммов антагонистов к культуре льна масличного

Краснодар, ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2020 г.

Вариант	Титр, КОЕ/мл	Обработка семян	Погружение корней проростков в суспензию
		всхожесть, %	увядание, %
1	2	3	4
Контроль	-	79,0	0
11-3 <i>Bacillus</i> sp.	5,4x10 ⁹	89,0	0
Б-2 <i>B. circulans</i>	2,8x10 ⁹	84,0	0
D 1-1 <i>Bacillus</i> sp.	1,9x10 ⁹	92,0	0
D 7-3 <i>B. subtilis</i>	1,7x10 ⁹	90,0	0



Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
К 1-2 <i>B. subtilis</i>	$3,8 \times 10^9$	87,0	0
14-3 <i>P. chlororaphis</i>	$2,7 \times 10^9$	85,0	0
Sgc-1 <i>Pseudomonas</i> sp.	$3,0 \times 10^9$	88,0	0
T-5 <i>Trichoderma</i> sp.	$2,3 \times 10^7$	88,0	0
И-3 <i>Basidiomycetes</i>	$3,0 \times 10^5$	89,0	0
T-1 <i>Trichoderma</i> sp.	$5,7 \times 10^7$	89,0	0

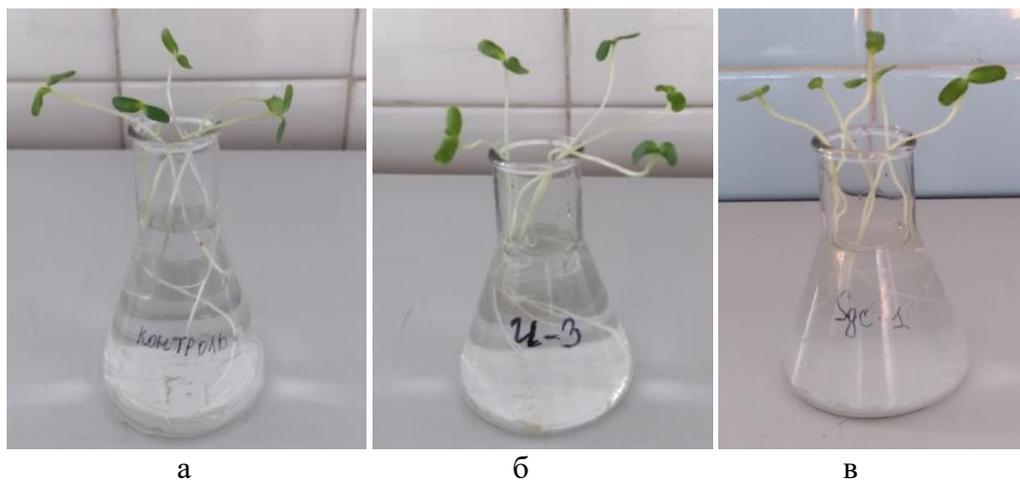


Рисунок 1 – Влияние перспективных штаммов антагонистов на увядание проростков льна масличного с подрезанной корневой системой (ориг.):
а – контроль (проростки в стерильной воде);
б – проростки в грибной суспензии И-3 *Basidiomycetes*;
в – проростки в бактериальной суспензии Sgc-1 *Pseudomonas* sp.

Установлено ростостимулирующее влияние перспективных штаммов антагонистов на проростки льна масличного. Наиболее сильное влияние штаммы оказывали на длину и массу корня проростков (табл. 2; рис.2).

Таблица 2. Ростостимулирующее влияние перспективных штаммов антагонистов на проростки льна масличного

Краснодар, ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2020 г.

Вариант	Длина корня		Масса корня		Длина побега		Масса побега	
	см	в % к контролю	г	в % к контролю	см	в % к контролю	г	в % к контролю
Контроль	4,50	-	0,006	-	3,50	-	0,016	-
11-3 <i>Bacillus</i> sp.	9,38	108,4	0,012	100	4,75	35,7	0,026	62,5
Б-2 <i>B. circulans</i>	7,90	75,6	0,010	66,7	3,58	2,3	0,020	20,0
D 1-1 <i>Bacillus</i> sp.	8,03	78,4	0,010	66,7	4,59	31,1	0,024	50,0
D 7-3 <i>B. subtilis</i>	7,10	57,8	0,010	66,7	3,66	4,6	0,021	25,0
К 1-2 <i>B. subtilis</i>	9,09	102,0	0,012	100	3,97	13,4	0,023	43,8
14-3 <i>P. chlororaphis</i>	5,82	29,3	0,009	50,0	3,80	8,6	0,023	43,8
Sgc-1 <i>Pseudomonas</i> sp.	4,52	0,4	0,009	50,0	3,69	5,4	0,021	25,0
T-1 <i>Trichoderma</i> sp.	6,98	55,1	0,010	66,7	4,53	29,4	0,025	56,3
И-3 <i>Basidiomycetes</i>	5,87	30,4	0,010	66,7	4,01	14,6	0,023	43,8
T-5 <i>Trichoderma</i> sp.	6,12	36,0	0,010	66,7	4,05	15,7	0,023	43,8



По сравнению с контролем лучшие результаты по увеличению как длины (на 102,0–108,4 %), так и массы корня (на 100 %) показали бактериальные штаммы К 1-2 *B. subtilis* и 11-3 *Bacillus* sp. Из грибных антагонистов выделился штамм Т-1 *Trichoderma* sp., показавший увеличение длины корня по сравнению с контролем на 55,1 %, а массы – на 66,7 %. Влияние штаммов на длину и массу побега по сравнению с контролем также выявлено, но в меньшей степени, чем на корень: для бактериальных штаммов (на 2,3–35,7 % и 20,0–62,5 % соответственно), для грибных – (на 14,6–29,4 % и 43,8–56,3 % соответственно).

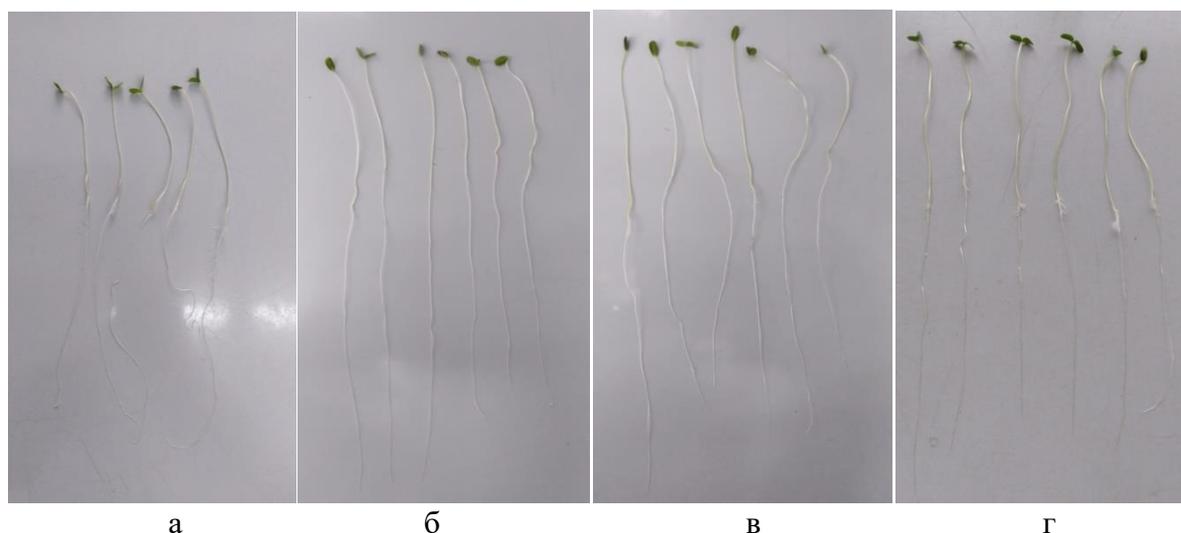


Рисунок 2 – Ростостимулирующее влияние перспективных штаммов грибов и бактерий антагонистов на проростки льна масличного (ориг.):
а – контроль; б – К 1-2 *B. subtilis*; в – 11-3 *Bacillus* sp.; г – Т-1 *Trichoderma* sp.

Таким образом, в результате исследований были выделены бактериальные штаммы антагонисты К 1-2 *B. subtilis* и 11-3 *Bacillus* sp., а из грибных – Т-1 *Trichoderma* sp., которые оказались не только нефитотоксичными, но и обладающими ростостимулирующей активностью к культуре льна масличного.

Заключение. Установлено, что перспективные штаммы грибов и бактерий антагонистов не оказывают негативного влияния на всхожесть семян льна масличного и не вызывают увядания проростков с подрезанной корневой системой. Отмечено повышение всхожести семян льна масличного по сравнению с контролем во всех вариантах на 5,0–13,0 %. Лучшие результаты по увеличению как длины (на 102,0–108,4 %), так и массы корня (на 100 %) по сравнению с контролем показали бактериальные штаммы К 1-2 *B. subtilis* и 11-3 *Bacillus* sp. Из грибных антагонистов выделился штамм Т-1 *Trichoderma* sp., показавший увеличение длины корня по сравнению с контролем на 55,1 %, а массы – на 66,7 %. Влияние всех исследуемых штаммов по сравнению с контролем на длину и массу побега также выявлено, но в меньшей степени, чем на корень (на 2,3–35,7 % и 20,0–62,5 % соответственно).

Благодарности. Работа проводилась под руководством доктора биологических наук Маслиенко Л.В.

Литература

1. Лучкина Т.Н., Лучкин Н.С., Картамышева Е.В., Горбаченко Ф.И. Лен масличный – динамично растущая культура в России– [Электронный ресурс]. – Режим доступа // <https://xn---dtbesamnfg4a.xn--p1ai/data/documents/LEN-MASLICHNYY-DINAMICHNO-RASTUSHchAY-a-KULTURA-V-ROSSII.pdf> (дата обращения 10.01.2021)



2. Курилова Д.А., Бушнев А.С., Подлесный С.П. Поражённость масличного льна фузариозом в зависимости от приёмов возделывания в условиях центральной зоны Краснодарского края // Масличные культуры: НТБ ВНИИМК – Краснодар, 2018. – Вып. № 2 (174). – С. 112–119.
3. Семеренко С.А., Курилова Д.А. Инкрустация семян льна масличного как способ защиты всходов от вредных организмов в условиях центральной зоны Краснодарского края // Масличные культуры: НТБ ВНИИМК. – 2017. – Вып. 4 (172). – С. 125–133.
4. Маслиенко Л. В. Обоснование и разработка микробиологического метода борьбы с болезнями подсолнечника: автореф. дис. док-ра биол. наук. – Краснодар, 2005. – 48 с.
5. Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х., Даценко Л.А., Ефимцева Е.А. Первичный скрининг штаммов антагонистов из коллекции лаборатории биометода ВНИИМК к возбудителю фузариоза льна масличного // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 3 (179). – С. 92–99.
6. Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х., Даценко Л.А., Ефимцева Е.А. Первичный скрининг штаммов антагонистов к возбудителю фузариоза льна масличного // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2019. – № 3 (780). – С. 91–98.
7. Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х., Даценко Л.А., Ефимцева Е.А. Поиск оптимального метода искусственного заражения льна масличного возбудителем фузариоза в лабораторных условиях в грунте // Масличные культуры. – 2020. – Вып. 1 (181). – С. 101–107.
8. Нетрусов Ф.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
9. Асатурова А.М. Перспективные штаммы бактерий – продуценты микробиопрепаратов для снижения вредоносности фузариоза на подсолнечнике: автореф. дис. канд. биол. наук. – СПб., 2009. – 23 с.

THE DETERMINATION OF THE PHYTOTOXICITY AND GROWTH-STIMULATING ACTIVITY OF PROMISING ANTAGONIST STRAINS OF FUSARIUM BLIGHT PATHOGENS ON THE OIL FLAX CROP

Voronkova A.Kh.

The article presents the test results on determination of the phytotoxicity and growth-promoting activity of the antagonist strains of oil flax Fusarium blight pathogens identified at the first stages of screening from the collection of the biomethod laboratory of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops. We established that the promising strains of fungi and bacteria do not have a negative effect on the germination of oil flax seeds and do not cause wilting of seedlings. In all variants we observed an increase in seed germination by 5.0–13.0 % in comparison with the control. The bacterial strains K 1-2 *B. subtilis* and 11-3 *Bacillus* sp. showed the best results in increasing the root length (by 102.0–108.4 %) and the root mass (by 100 %) compared to the control. Among the fungi strains, T-1 *Trichoderma* sp. showed an increase in the root length and mass by 55.1 % and 66.7 %, respectively, in comparison with the control. We also noted the effect of all studied strains on the shoot length and mass in comparison with the control but to a lesser extent than on the root (by 2.3–35.7 % and 20.0–62.5 %, respectively).

Key words: oil flax, Fusarium blight pathogens, antagonist strains, phytotoxicity, growth-promoting activity.